

生脉饮及其各组分提取物对大鼠离体心脏功能的影响

唐跃¹, 渠凯², 崔永春¹, 朱海波^{2*}

(1. 中国医学科学院阜外心血管病医院, 动物实验中心, 北京 100037;

2. 中国医学科学院药物研究所, 中草药物质基础与资源利用教育部重点实验室, 北京 100050)

[摘要] 目的: 研究生脉饮及其各组分粗提物对离体正常及衰竭心脏心功能的影响。方法: Working Heart 离体心脏灌注装置给药, 冠状动脉结扎制备心肌缺血模型, 多道生理记录仪测定不同药物对心功能的影响。结果: 不同浓度的生脉饮均能不同程度增加正常与衰竭心脏左心室收缩最大速率及每分钟冠脉流量。人参方略好于党参方。生脉饮组分中红参与麦冬对心脏功能参数正性影响较显著, 其中麦冬两组分粗提物麦冬-30、麦冬总皂苷对离体心衰模型的左心室内压最大变化速率均有较显著影响。结论: 生脉饮中对离体衰竭心脏心功能起正性影响作用的主要物质为麦冬-30 和麦冬总皂苷。

[关键词] 生脉饮; 离体心衰模型; 大鼠; 麦冬

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)06-0232-04

Effect of Shengmai Yin and its Compositions Extract on Isolated Rat Heart

TANG Yue¹, QU Kai², CUI Yong-chun¹, ZHU Hai-bo^{2*}

(1. Animal Experimental Center, Cardiovascular Institute and Fuwai Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100037, China;

2. Cardio-cerebral Vascular Pharmacology Lab, Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of Shengmai Yin and its crude compositions extract on isolated normal and failure heart model. **Method:** Failure model of isolated heart was made by ligating coronary artery, then the hearts were perfused by Working Heart system. Polygraph was used to determine cardiac function affected by different drugs. **Result:** Shengmai Yin of different concentrations could cause the left ventricular systolic pressure, the maximum rise or decline rate of left ventricular pressure and coronary blood flow to increase in a concentration-dependent manner. Renshenfang was a little better than Dangshenfang. As compositions of Shengmai Yin, Hongshen and Ophiopogonic Radix had a positive effect on cardiac function, of which two parts of Ophiopogonis Radix crude extracts, Maidong-30 and saponin all had a great effect on left intraventricular pressure maximum alleosis rate. **Conclusion:** The main materials of Shengmai Yin affected positively for isolated failure heart are two compositions of Ophiopogonic Radix: Ophiopogonic Radix-30 and saponin.

[Key words] Shengmai Yin; isolated failure heart; rat; Ophiopogonic Radix

近年来, 生脉饮治疗冠心病^[1]、心绞痛^[2]、心功能不全^[3]、心力衰竭^[4]、病毒性心肌炎^[5]等疾病成

为临床研究热点。有研究发现其人参、麦冬等组分有扩张心脑血管、增加动脉血流量、降低外周血管阻力、减少心肌耗氧量、提高心肌耐缺血能力等作用, 但生脉饮对心功能影响的量效关系尚不确切, 尤其是其各组分对心脏功能影响和作用靶点研究较少。本文拟用大鼠离体心脏, 结扎冠状动脉左前降支的方法, 建立离体心衰模型, 观察不同浓度生脉饮及其

[收稿日期] 2010-01-21

[第一作者] 唐跃, 主任医师, 临床医学, Tel: 010-88396321, E-mail: tangyue1226@vip.sina.com

[通讯作者] * 朱海波, 研究员, 博士生导师, Tel: 010-63188106, E-mail: zhuhaibo@imm.ac.cn

各组分对心功能的影响,以讨论生脉饮及其各部位提取物的强心作用,为其作用机制及作用靶点研究打下基础。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂 生脉饮党参方(0263624)、人参方(批号 0264358)由北京同仁堂科技发展股份有限公司制药厂提供,呈棕色液体状,密封常温保存。阳性药哇巴因由美国 Acros 公司提供,呈白色粉末状,用生理盐水溶解配成 $6.5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的母液,储存于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中,生脉饮各组分粗提物及麦冬脂溶性及水溶性提取物由中国医学科学院中国协和医科大学药物研究所天然产物化学研究室张东明课题组提供。其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器 多道生理记录仪(MP150, BIOPAC System);恒温水槽(上海市科乐理化机械厂), Working heart 离体心脏灌流系统(1201010bEZ, 美国 Radnoti 公司)。

1.3 冠脉结扎心肌缺血诱导衰竭心脏模型的建立 SD 大鼠,雄性,体重 $300\sim 330\text{ g}$,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,Ⅱ级,合格证号 SCXX(京)2002-0003。大鼠用 10% 水合氯醛 $3\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ ip 麻醉,仰卧位固定,开胸取出心脏置于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预冷的 $\text{O}_2:\text{CO}_2(95:5)$ Krebs Hersenleit(K-H)液($1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}:\text{NaCl } 118,\text{KCl } 4.74,\text{MgSO}_4\text{ } 1.2,\text{Glucose } 11.1,\text{CaCl}_2\text{ } 3,\text{NaHCO}_3\text{ } 25,\text{KH}_2\text{PO}_4\text{ } 1.2,\text{Na}_2\text{EDTA } 0.57$)中修剪,找到主动脉,于发出分支前剪断,挂于灌流系统上。打开灌流装置以恒温($38\text{ }^{\circ}\text{C}$)、恒压(10 kPa)经主动脉逆行灌流,待心脏跳动稳定后连续测定心脏每分钟冠脉流量(CBF)3~5次,然后在左心房壁用眼科剪剪一小口,将一末端膨大的塑料管经小口插入左心室,另一端经压力换能器连接到生理记录仪上,测定左心室收缩和舒张的最大速率($\pm\text{ dp}/\text{dt}_{\text{max}}$)等心功能指标。待心脏稳定后,继续灌注 20 min K-H 液并记录上述各项指标。再于肺动脉根部前 3 mm 左右结扎冠状动脉左前降支,当 CBF 下降 30%左右、心肌收缩力下降至原来 $1/3\sim 1/2$ 时,可认为心肌缺血模型建立成功^[6-8]。

1.4 不同浓度生脉饮及其各组分粗提物对离体正常和缺血心衰模型的影响

1.4.1 向正常及缺血模型心脏灌流系统内加入哇巴因母液,使哇巴因终浓度为 $1\times 10^{-5}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$,灌流心脏,记录 10 min 内各指标的变化数值,作为阳性

对照。

1.4.2 分别向灌流系统加入低($75\text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$)、中($150\text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$)和高($300\text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$)3种剂量生脉饮,灌流心脏,记录 10 min 内各指标的变化数值。

1.4.3 将生脉饮各粗提物红参,麦冬,五味子等用生理盐水(其中麦冬脂溶性粗提物总皂苷用 DMSO 溶解)溶解后加到离体心脏灌流系统中,药物终质量浓度达到 $100\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,灌流心脏,记录 10 min 内各指标的变化数值。

1.4.4 向灌流系统内加入相同剂量生理盐水或 DMSO,作为空白对照,灌流心脏,记录 10 min 内各指标的变化数值。

1.5 统计学方法 结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用 SPSS 统计分析软件进行多因素方差分析, $P<0.05$ 有统计学意义。

2 结果

2.1 心衰前后离体大鼠心功能参数变化 离体大鼠心脏心衰前后的心功能参数见表 1。冠脉结扎术后 CBF 和 $\pm\text{ dp}/\text{dt}_{\text{max}}$ 均比术前明显降低,差异具有统计学意义($P<0.01$)。

表 1 心衰模型前后心功能参数的变化($\bar{x}\pm s,n=6$)

时间	$\text{dp}/\text{dt}_{\text{max}}$	CBF/%
心衰前	545 ± 75.8	11.2 ± 1.3
心衰后	$176.4\pm 37.4^{(1)}$	$8.4\pm 1.9^{(1)}$

注:与心衰前比较¹⁾ $P<0.01$ 。

2.2 哇巴因对离体大鼠心脏及心衰模型的影响 哇巴因($1\times 10^{-5}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$)可引起正常和心衰模型组离体大鼠心脏 $\text{dp}/\text{dt}_{\text{max}}$ 短时增加,但 CBF 显著下降。见表 2,3。

表 2 正常大鼠离体心脏哇巴因灌流后心功能参数变化($\bar{x}\pm s,n=12$)

组别	浓度/ $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	$\text{dp}/\text{dt}_{\text{max}}/\%$	CBF/%
生理盐水	-	-3.26 ± 0.89	-3.96 ± 1.12
哇巴因	1×10^{-5}	$10.58\pm 3.08^{(1)}$	-7.44 ± 1.96

注:与生理盐水(空白)组比较¹⁾ $P<0.01$;“-”表示该指标参数下降(表 3~5 同)。

表 3 心衰模型大鼠离体心脏哇巴因灌流后心功能参数变化($\bar{x}\pm s,n=5$)

组别	剂量/ $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	$\text{dp}/\text{dt}_{\text{max}}/\%$	CBF/%
生理盐水	-	-2.85 ± 0.57	-3.05 ± 0.75
哇巴因	1×10^{-5}	$24.86\pm 6.83^{(1)}$	-15.44 ± 15.28

2.3 不同质量浓度生脉饮口服液对离体大鼠正常心脏及衰竭模型的影响 不同剂量生脉饮可引起离体大鼠心脏心功能参数浓度依赖性改变。正常心脏和离体心脏均有改变。根据生脉饮说明书服用剂量,定 75 mL·L⁻¹为低浓度、300 mL·L⁻¹为高浓度、150 mL·L⁻¹为中浓度。低中高浓度的人参方生脉饮均能使 dp/dt_{max}和 CBF 短时增加,高浓度生脉饮增加显著,但往往先抑制心功能,常伴有收缩不规律和心律不齐。终浓度相同的党参方生脉饮对心脏作用与人参方相似,但作用强度较人参方弱且相对不稳定。见表 4,5。

表 4 正常大鼠离体心脏生脉饮(人参方和党参方)灌流 后心功能参数的改变($\bar{x} \pm s, n = 5$)			
组别	剂量/mL·L ⁻¹	dp/dt _{max} /%	CBF/%
生理盐水	-	-3.9 ± 1.5	-2.9 ± 0.019
生脉饮(人参方)	75	4 ± 2.4 ¹⁾	4.00 ± 0.032 ¹⁾
	150	11 ± 0.037 ¹⁾	8.2 ± 0.032 ¹⁾
	300	17 ± 0.099 ¹⁾	9.4 ± 0.020 ¹⁾
生脉饮(党参方)	75	-0.28 ± 2.82	-5.2 ± 3.5
	150	20.3 ± 6.4	8.02 ± 3.98
	300	17.3 ± 6.79	8.6 ± 3.7

表 5 心衰模型大鼠离体心脏生脉饮(人参方和党参方)灌流后 心功能参数的改变($\bar{x} \pm s, n = 5$)			
组别	剂量/mL·L ⁻¹	dp/dt _{max} /%	CBF/%
生理盐水	-	-2.48 ± 0.37	-2.56 ± 1.62
生脉饮(人参方)	75	12.59 ± 4.40 ¹⁾	8.54 ± 3.96 ¹⁾
	150	26.56 ± 12.23 ¹⁾	13.10 ± 4.17 ¹⁾
	300	31.68 ± 14.78 ¹⁾	14.07 ± 4.05 ¹⁾
生脉饮(党参方)	75	0.2 ± 3.3	-0.8 ± 1.96
	150	7.04 ± 4.39	15.18 ± 8.09
	300	11.45 ± 5.37	18.04 ± 10.66

2.4 生脉饮初步提取物红参、麦冬和五味子对离体大鼠心衰模型的影响 生脉饮粗提物红参、麦冬和五味子(终质量浓度为 100 mg·L⁻¹)均可引起离体大鼠心脏心功能参数改变。红参和麦冬可使 dp/dt_{max}和 CBF 短时增加,与空白对照组比较,麦冬组差异非常显著,见表 6。

2.5 麦冬提取物麦冬-30 和麦冬总皂苷对离体大鼠心衰模型的影响 麦冬脂溶及水溶粗提物麦冬-30 和麦冬总皂苷均可使离体大鼠心衰模型 CBF 下降,dp/dt_{max}显著增加,其中总皂苷引起 dp/dt_{max}增加

量与 DMSO 空白对照组比较,差异非常显著,见表 7。

表 6 离体大鼠心衰模型生脉饮 3 种粗提物灌流 后心功能参数的改变($\bar{x} \pm s, n = 3$)			
组别	剂量/mg·L ⁻¹	dp/dt _{max} /%	CBF/%
DMSO	-	-2.57 ± 1.17	-4.17 ± 1.53
红参	100	2.67 ± 1.93 ¹⁾	18.87 ± 7.96 ¹⁾
麦冬	100	12.6 ± 2.58 ²⁾	10.17 ± 2.08 ²⁾
五味子	100	-1.53 ± 1.46	-6.17 ± 4.04

注:与 DMSO(空白)对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;“-”表示该指标参数下降。

表 7 离体大鼠心衰模型麦冬 2 种提取物灌流后 心功能参数的改变($\bar{x} \pm s, n = 3$)			
组别	剂量/mg·L ⁻¹	dp/dt _{max} /%	CBF/%
生理盐水	-	-1.57 ± 1.1	-4.17 ± 1.53
麦冬-30	100	8.4 ± 2.75 ¹⁾	-8.62 ± 1.74 ¹⁾
DMSO	100	-2.83 ± 0.42	-3.17 ± 1.07
麦冬总皂苷	100	10.48 ± 1.35 ²⁾	-3.2 ± 1.18

注:与生理盐水(空白)对照组比较¹⁾ $P < 0.05$;与 DMSO(空白)对照组比较²⁾ $P < 0.01$;“-”表示该指标参数下降。

3 讨论

根据上述实验结果,结扎大鼠冠状动脉后心脏各心功能参数均降低,dp/dt_{max},CBF 降低非常显著。提示心衰模型建立成功。哇巴因使心脏 CBF 下降,这可能与哇巴因作用于心脏的机制特点有关^[9]。党参方和人参方对心脏功能参数都有正性作用,随浓度增高影响增强,但无明显量效关系。党参方生脉饮低浓度对心功能几乎没有正性影响。对人参方 3 组份粗提物进行筛选,红参和麦冬粗提物对衰竭心脏有效,麦冬作用效果更显著,故认为生脉饮中麦冬起主导作用。麦冬 2 部位提取物麦冬-30 和麦冬总皂苷离体心功能评价结果显示,对于离体正常心脏,麦冬-30 能使 dp/dt_{max}和 CBF 增加,前者增加幅度更显著,总皂苷则表现为无效;而对心衰模型,麦冬-30 和总皂苷均能增加 dp/dt_{max},总皂苷引起的差异更显著,且作用较稳定,但两者对 CBF 均无正性影响。有文献报道,麦冬上述主要成分有抗心肌缺血作用,这与本文实验结论相符^[10]。

当前,对古方生脉饮各组分的药效学研究较多,但作用机制及作用靶点尚不确切。本文利用离体心衰模型的方法评价了生脉饮各组分及其粗提物对心功能指标的影响有利于生脉饮有效成分的研究开发。

复方夏枯草保肝降酶作用研究

冯容喜*,张树宏,林赤,林凤阳
(湛江市第二中医院,广东湛江 524013)

[摘要] 目的:观察复方夏枯草水煎剂对四氯化碳(CCl₄)致肝损伤小鼠的血清转氨酶活性的影响。方法:采用 ip 0.2% CCl₄ 调和油溶液 10 mL·kg⁻¹ 造成小鼠急性肝损伤模型,以复方夏枯草(90,45,22.5 g·kg⁻¹)和阳性对照药联苯双酯(0.15 g·kg⁻¹)的影响)ig,连续 7 d。测定小鼠血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、门冬氨酸氨基转移酶(AST)的活性,观察对小鼠肝组织的病理学变化的影响。结果:复方夏枯草高、中、低剂量和联苯双酯都能明显降低四氯化碳致小鼠急性肝损伤小鼠血清 ALT,AST 升高,减轻 CCl₄ 对肝脏细胞的损伤。其中复方夏枯草各剂量组和联苯双酯 ALT 与模型组比,*P* < 0.01,而高、低 2 个剂量和联苯双酯组 AST 与模型组比,*P* < 0.01。结论:复方夏枯草对四氯化碳致小鼠急性肝损伤有一定的保护作用,与联苯双酯比无显著性差别。

[关键词] 复方夏枯草提取物;联苯双酯;四氯化碳;急性肝损伤;小鼠;转氨酶
[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2011)06-0235-02

夏枯草为唇形科夏枯草属植物 *Prunella vulgaris* L.,夏枯草其具有清肝明目、清热散结作用。本研究根据民间验方,以夏枯草为主,组成的复方夏枯草,观察复方夏枯草不同剂量对四氯化碳致小鼠急性肝损伤的保护作用。

1 材料

1.1 药品与试剂 复方夏枯草,按复方夏枯草组方的成份比例,水煎煮 3 次,每次煮沸 1 h,滤过,合并 3 次滤液,浓缩成所需浓度。由湛江市第二中医院提供;联苯双酯滴丸,由广州星群药业股份有限公司生

产(批号 20061204);四氯化碳,由广东汕头市西陇化工厂生产(批号 060928);鹰唛调和油,由中山市鹰唛食品有限公司生产(批号 20061231);丙氨酸氨基转移酶(ALT)试剂盒、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)试剂盒,由北京中生北控生物科技股份有限公司生产,批号分别为 070121,060101。

1.2 仪器 BS-300 全自动生化分析仪,由深圳迈瑞生物医疗电子股份公司生产;TGL-16 台式离心机,由上海安亭科学仪器厂生产;SA3000 电子显微镜,由北京泰克仪器有限公司生产。

1.3 动物 昆明种小鼠由广东医学院实验动物中心提供。合格证号(粤)监证字 2008A037 号。

2 方法

2.1 分组给药 清洁级昆明小鼠 60 只,体重 18 ~

[收稿日期] 2010-11-05
[通讯作者] * 冯容喜, Tel: 13356520010, E-mail: zd370 @ yahoo. com

[参考文献]

[1] 军圣民.生脉注射液对冠心病患者血脂及血液流变学的影响[J].右江民族医学院学报,1999,23(3):394.

[2] 顾天鸽,于秀玲.生脉注射液治疗冠心病心绞痛 62 例[J].山东中医杂志,1999,18(8):351.

[3] 王燕丽,刘捷,张光泰.参麦注射液治疗左室舒张功能不全 60 例[J].辽宁中医杂志,1999,26(11):508.

[4] 贾旭林,张杏莲,杨雅林,等.参麦注射液佐治肺炎对心脏功能的影响[J].山西医科大学学报,1999,30(4):326.

[5] 陈艳珍.参麦注射液治疗病毒性心肌炎的疗效观察

[I]. 华西药理学杂志,1999,14(5/6):417.

[6] 徐叔云,卞如濂,陈修,等.药理实验方法学.3 版[M].北京:人民卫生出版社,2002:986.

[7] 周文武,林玲,陈军,等.冠脉结扎法制做大鼠心肌缺血模型[J].中国实验动物学报,2004,12(4):227.

[8] 梁黔生,郑智.哇巴因对心肌动作电位及钙离子电流的作用[J].高血压杂志,2004,12(3):253.

[9] 于长水.参类中药浅析[J].山东医药工业,2002,21(5):25.

[10] 王丽霞,吕圭源.麦冬及其提取物抗心肌缺血作用研究[J].中国医学理论与实践.2005,15(2):265.

[责任编辑 何伟]